

Diversité, origine et dynamique évolutive des ignames cultivées *Dioscorea rotundata* Poir. au Bénin

Serge TOSTAIN^{(1)*}, Hana CHAÏR^(2,3), Nora SCARCELLI⁽¹⁾,
Jean-Louis NOYER⁽⁴⁾, Clément AGBANGLA⁽³⁾,
Jean-Leu MARCHAND⁽²⁾, Jean-Louis PHAM⁽¹⁾

⁽¹⁾IRD, UMR 1097-DGPC, Équipe Dynadiv, BP 64501,
34394 Montpellier Cedex 5, France

⁽²⁾Université d'Abomey-Calavi, Laboratoire de Génétique, FAST,
BP 526 Cotonou, Bénin

⁽³⁾Cirad-CA Calim Équipe Racines et Tubercules, TA 70/16,
34398 Montpellier Cedex 5, France

⁽⁴⁾Cirad-Amis/Biotrop, UMR 1096 / PIA, TA 40/03,
34398 Montpellier Cedex 5, France

Abstract: Diversity, origin and evolutionary dynamics of the cultivated yams *Dioscorea rotundata* Poir. from Benin (West Africa). Yam is an important crop in West Africa. Benin is a large producer country with 1 875 000 t in 2003. The cultivars, *D. rotundata* Poir., are propagated vegetatively. The principal objectives of this study were 1) to evaluate the diversity of the cultivars and the wild relative yams, 2) to study the genetic relationships between cultivars and between cultivars and wild yams and 3) to determine the nature of the spontaneous yams collected by farmers outside cultivated areas to develop new yams varieties ("pre-domesticated"). More than 400 accessions of cultivars, and of related wild yams *D. abyssinica* and *D. praehensilis* from Benin were collected and studied using different molecular markers: AFLP (four combinations of primers), nuclear simple sequence repeats (11 SSRs) and chloroplast simple sequence repeats (5 cpSSRs). SSR diversity of the cultivars is organised in geographical structure and a structure according to the cycle of the plants (early or late). The two wild ancestors of the cultivars are genetically different suggesting low or more gene flow. The three species have the same cpSSR haplotype I, and could not be distinguished, except three accessions of *D. abyssinica* (haplotype IV). Forty-seven percent of the pre-domesticated yams are genetically close to cultivated yams.

* Correspondance et tirés à part : tostain@mpl.ird.fr

We also detected few cultivars which have a wild genotype. These results confirm the use by few farmers of the sexual reproduction in the wild and cultivated compartments. The existence of cultivars genetically different from the wild relative yams and the existence of an original practice of ennoblement in the evolutionary dynamics of the yams reinforce the interest of the *in situ* conservation of the genetic resources of the cultivated and wild yams in Africa.

genetic diversity / SSRs / cpSSRs / domestication / conservation

Résumé : Les objectifs de l'étude ont été 1) d'évaluer la diversité des cultivars et des ignames sauvages apparentées au Bénin, 2) d'étudier les relations génétiques entre cultivars et les relations entre cultivars et ignames sauvages et 3) de déterminer l'origine génétique des ignames en cours d'ennoblissement en estimant l'impact des pratiques de domestication. Plus de 400 accessions de cultivars, *D. rotundata* Poir. et d'ignames sauvages apparentées *D. abyssinica* et *D. praehensilis* ont été collectées au Bénin et analysées à l'aide de différents types de marqueurs : AFLP, microsatellites nucléaires et chloroplastiques. Les deux espèces sauvages ancêtres des cultivars sont génétiquement différenciées sur la base des marqueurs moléculaires, y compris en situation de sympatrie, suggérant ainsi que les flux de gènes sont très réduits. L'étude des cultivars montre une structuration géographique et une structuration suivant le nombre de tubérisations (une ou deux). Les trois espèces ont le même haplotype chloroplastique à l'exception de trois accessions de *D. abyssinica*. Le processus de domestication chez les ignames africaines aurait abouti à une forte divergence des gènes nucléaires mais pas des gènes chloroplastiques. Environ 47 % des ignames prédomestiquées sont de type cultivé et 53 % de type sauvage ou intermédiaire. Certains cultivars ont présenté des génotypes AFLP de type sauvage. L'utilisation par certains paysans des produits de la reproduction sexuée dans les compartiments sauvage et cultivé est ainsi confirmée.

diversité génétique / microsatellite / chloroplaste / domestication / conservation

1. INTRODUCTION

L'igname, *Dioscorea* sp. est une monocotylédone dioïque annuelle ou pérenne lianescente cultivée principalement pour son tubercule souterrain. C'est en Afrique de l'Ouest que la production d'igname est la plus importante, environ 30 millions de tonnes dont 95 % issues des espèces *D. cayenensis* Lam. ou *D. rotundata* Poir., annuelles de la section Enantiophyllum. La production, estimée à 1 875 000 tonnes sur 107 000 hectares en 2003 place le Bénin au quatrième rang des pays producteurs

d'igname en Afrique de l'Ouest derrière le Nigeria, le Ghana et la Côte d'Ivoire. Les ignames sont principalement cultivées dans le nord (département du Borgou), le centre (Collines) et le nord-ouest (Atacora) du Bénin. La multiplication végétative des variétés est réalisée, dans le cadre d'une agriculture traditionnelle, par le bouturage de fragments de tubercules. De nombreux noms de variétés locales ont été recensés dans chacun de ces départements. Leur caractérisation a été faite à l'aide de marqueurs morphologiques, enzymatiques et RAPD. Sur la base des observations morphologiques des regroupements ont été réalisés [3]. Quelques variétés se sont avérées être polyclonales. Dans les différents départements, les cultivars sont en sympatrie avec les deux espèces sauvages les plus apparentées soit *D. abyssinica* Hochst. ex Kunth, soit *D. praebensilis* Benth. qui se reproduisent sexuellement. Les deux espèces sauvages sont en sympatrie au centre du Bénin.

Des études socio-économiques ont été réalisées dans plusieurs terroirs du Bénin sur le nombre de variétés, leur gestion et leur conservation. Les cultivars sont généralement classés en deux groupes : précoces à deux récoltes (dont une réservée au bouturage) et tardifs à une seule récolte. Les ignames de ces deux classes se distinguent aussi par plusieurs caractères morphologiques [5]. La « domestication » ou ennoblissement des ignames africaines est une pratique paysanne originale qui a été mise en évidence au Bénin [6], [17], [19]. Cette ancienne pratique paysanne consiste à planter des ignames spontanées situées près des champs et que nous appellerons ici « pré-domestiquées ». Les ignames en cours d'ennoblissement sont récoltées deux fois par an comme une variété précoce et les tubercules sont sélectionnés sur plusieurs cycles de culture. Une fois le processus terminé, les tubercules sont intégrés dans la variété la plus proche morphologiquement qui devient alors polyclonale. Les effets de ce processus sur la diversité génétique ont été observés à l'aide de marqueurs enzymatiques [11] et AFLP [18]. Il est important de clarifier, avec d'autres marqueurs, l'origine génétique des ignames spontanées car la réussite de l'ennoblissement et les conséquences sur la diversité génétique des nouveaux cultivars ne sont pas les mêmes si les plantes de départ sont génétiquement sauvages ou cultivées.

Il y a plusieurs années, on faisait les hypothèses suivantes : les deux espèces sauvages sont deux écotypes d'une même espèce, les cultivars sont très proches génétiquement de cette espèce, des hybrides interspécifiques ont été domestiqués, la domestication permet de

renouveler rapidement le stock variétal et il doit être possible d'associer un cultivar et sa plante sauvage ancestrale. Nous avons développé un programme de recherche visant à tester ces hypothèses.

Le Bénin, comme d'autres pays du golfe de Guinée a une situation privilégiée : il y a un nombre important de cultivars, la présence des deux espèces sauvages apparentées souvent en sympatrie avec les cultivars, l'existence d'un processus de domestication ou ennoblissement dans le Borgou, les Collines et le Zou.

La présente étude a pour objectifs (1) d'étudier au Bénin les relations entre les espèces sauvages, *D. praehensilis* et *D. abyssinica*, dans une zone de forte sympatrie en cherchant à mettre en évidence des hybrides interspécifiques viables, (2) d'évaluer l'importance et la structuration du polymorphisme d'une collection représentative de cultivars et l'intérêt des marqueurs moléculaires pour identifier les variétés locales monoclonales (3) de déterminer l'origine des cultivars et des ignames pré-domestiquées avec des marqueurs AFLP et microsatellites chloroplastiques. Les résultats seront déterminants dans la définition de stratégies de conservation et d'utilisation des ressources génétiques des ignames sauvages et cultivées.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Le matériel végétal

2.1.1. Les ignames sauvages de Tchaguessé

Il existe au Bénin une zone de sympatrie entre les deux espèces sauvages, autour du huitième parallèle de latitude nord notamment au lieu-dit Tchaguessé à quelques kilomètres du village d'Assaba dans la commune de Banté (Département des Collines). Soixante treize accessions ont été collectées en 2002 (fig. 1a et 1b) dans et autour d'une petite forêt en voie de disparition : 33 *D. abyssinica* dans la savane arborée encerclant le bois et près de champs anciens ou récents (numérotées de a-1 à a-33) et 40 *D. praehensilis* sous le couvert forestier et dans une zone de déforestation récente (de p-34 à p-73). Les plantes ont été classées suivant leurs caractéristiques morphologiques observées au moment de la collecte, en particulier la présence ou l'absence d'épines sur les tiges et les tubercules. *D. praehensilis* est une espèce à tige et tubercules épineux contrairement à *D. abyssinica* [8].

2.1.2. Les autres accessions (cultivars, ignames sauvages et pré-domestiquées)

Plusieurs échantillonnages ont été réalisés

1. Cent quarante-six cultivars de quatre Départements du Bénin, Atacora (44), Borgou (64), Collines (22) et Zou (13) ont été collectés de 2000 à 2003 pour l'étude de la diversité des microsatellites nucléaires (liste disponible auprès des auteurs). Le classement suivant le cycle de culture (avec une ou deux récoltes ou mixte) a été fait suivant les déclarations des paysans et suivant des observations faites en champ [3]. La position géographique des principaux villages de collecte des 98 cultivars précoces, 41 tardifs et 7 mixtes a été notée (fig. 1a).

2. Une collection de cent quatorze accessions d'ignames sauvages (86 *D. abyssinica* et 25 *D. praehensilis*) a été acquise au cours de plusieurs collectes réalisées à travers le Bénin par le laboratoire de génétique de l'université d'Abomey-Calavi de 1997 à 2003. Trente-deux tubercules en cours d'ennoblissement (pré-domestiqués) ont été collectés chez des paysans de huit villages du Bénin, près des communes de Sinendé, de Banté et de Djidja. Le nombre d'années d'ennoblissement est variable (de un à dix ans).

3. Pour l'étude des microsatellites chloroplastiques, une collection de 202 accessions a été constituée i) de cultivars, ii) des ignames à différentes étapes d'ennoblissement (7) et iii) des accessions de *D. abyssinica* (16) et de *D. praehensilis* (26) collectées dans les forêts et les vieilles jachères soit près, soit éloignées des champs cultivés. Des accessions d'autres espèces sauvages présentes au Bénin ont été incluses dans cette étude : *D. togoensis*, *D. preussii*, *D. bulbifera*, *D. dumetorum*, *D. minutiflora*, *D. smilacifolia* et *D. burkilliana*. Un cultivar de *D. dumetorum* et un de *D. alata* (espèce asiatique) ont également été ajoutés à l'étude des microsatellites chloroplastiques.

2.2. Méthodes

L'ADN génomique total a été extrait à partir de jeunes feuilles collectées sur des plantes en serre ou aux champs au Bénin et séchées au silica gel. Les noyaux ont été séparés du cytosol contenant de grandes quantités de polysaccharides avant leur hydrolyse par un détergent (MATAB).

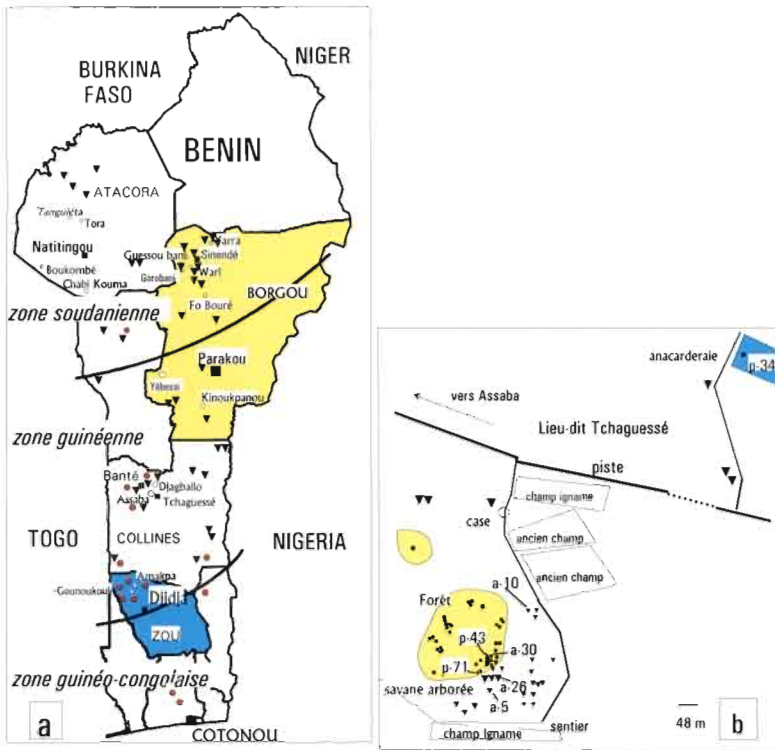


Figure 1: 1a : Carte du Bénin représentant les différentes régions avec leur chef-lieu et les villages où ont été collectés les cultivars et les plantes pré-domestiquées. 1b : Répartition géographique des 73 accessions collectées en mars 2002 dans la forêt de Tchaguessé près d'Assaba (région Collines). *D. abyssinica* (▼) et *D. praeheensis* (●).

2.2.1. Marqueurs AFLP (« Amplified fragment length polymorphism »)

Le protocole décrit par Vos *et al.* (1995) [20] a été suivi avec des changements mineurs. Quatre combinaisons d'amorces E-ACA/T-CTC (am1), E-ACT/T-CTC (am2), E-ACA/T-CTT (am3) et E-AGC/T-CTT (am4) ont été utilisées. Les amorces EcoRI sont marquées par un fluorochrome (fluorescence à 700 nm pour am1 et am2 et à 800 nm pour am3 et am4). Les produits d'amplification sont séparés sur gel de polyacrylamide 6,5 % dans un séquenceur Li-Cor IR² (Li-Cor, Lincoln, NE, USA). L'analyse des gels est réalisée grâce au logiciel d'imagerie AFLP-QuantarTM Pro 1.0 (Keygen products B.V., Wageningen, Hollande).

2.2.2. Marqueurs microsatellites nucléaires

Dix marqueurs microsatellites nucléaires parfaits ont été utilisés pour cette étude (la description des amorces est à paraître). Neuf des dix microsatellites ont des motifs dimères (3E04, 1C12, 2C05, 2D06, 2D08, 1A01, 2E07, 1F08 et 3B12) et un microsatellite possède un motif trimère (2E09). Après la PCR, la séparation des fragments d'ADN dénaturés contenant les séquences microsatellites de tailles différentes est réalisée sur gel d'acrylamide à 4 % par un séquenceur automatique ABI Prism® Genetic analyser, modèle 3100 d'Applied Biosystems. La lecture des gels a été réalisée à l'aide des logiciels GENESCAN et GENOTYPER de ABI Prism. La ségrégation des différents locus microsatellites s'est révélée être celle d'une plante diploïde [14].

2.2.3. Marqueurs microsatellites chloroplastiques

Cinquante-deux paires d'amorces cpSSRs de chloroplastes de Solanacée, *Nicotiana tabacum* [1], [21] et de riz [9] ont été testées après une électrophorèse sur gel de séquençage et une coloration au nitrate d'argent. Aucune des paires d'amorces consensus développées sur le riz n'a permis l'obtention d'un produit d'amplification. Cinq paires d'amorces consensus développées sur le tabac ont révélé du polymorphisme : NTCP8, NTCP9, NTCP37, NTCP39 et ccmp2.

2.2.4. Analyse des données

Seules les bandes polymorphes AFLP retrouvées sur plusieurs gels ont été prises en compte et codées par 0 (absence) et 1 (présence). L'analyse en composantes principales des 146 cultivars et 84 allèles microsatellites a été faite par le logiciel XLSTAT v6. Le logiciel Powermarker v3 [10] a été utilisé sur les données de génotypes microsatellites nucléaires pour le calcul des hétérozygoties (H_{obs}), des distances D_{LS} « Log shared allele distances » [2], ainsi que des arbres réalisés par la méthode du « neighbor-joining ». Des tests de Mantel ont été réalisés avec les D_{LS} entre cultivars, les distances géographiques entre lieux de collecte (exprimées en kilomètres) et les différents cycles (notation 1 quand les cultivars sont de cycles différents et 0 quand les cycles sont identiques). Les données microsatellites chloroplastiques cpSSR ont été codées pour chaque niveau de bande par 1 (présence) et 0 (absence). L'absence simultanée de fragments n'a pas été considérée.

C'est pourquoi l'indice de similarité de Dice d_{ij} [4] a été choisi pour construire le NJTree selon la méthode du « neighbor-joining ».

3. RÉSULTATS

3.1. Relations entre les deux espèces sauvages apparentées

Cent un niveaux de bande ont été retenus en AFLP : 31 pour la combinaison am1, 29 pour am2, 23 pour am3 et 18 pour am4. L'analyse en composantes principales des 73 accessions et des 101 bandes d'AFLP confirme que, même en situation de sympatrie, les deux espèces sont distinctes génétiquement (fig. 2).

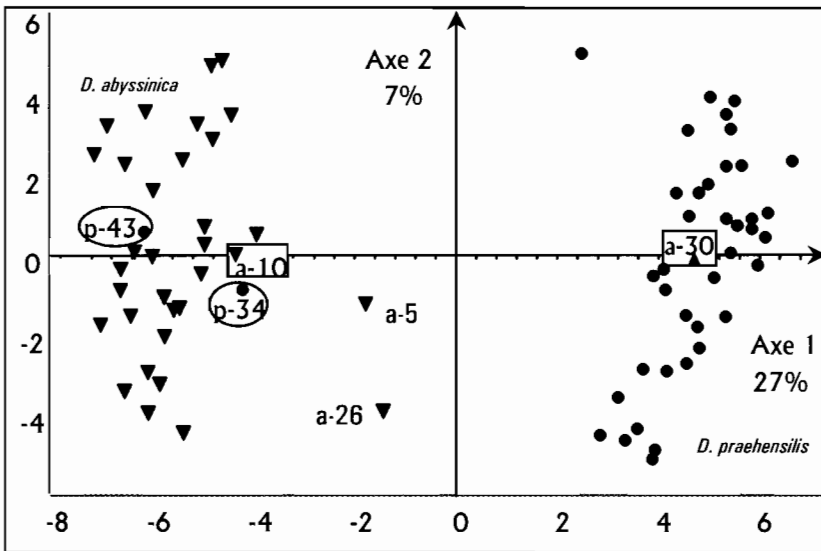


Figure 2 : Analyse en composantes principales de la diversité de quatre combinaisons d'AFLP (4 combinaisons d'amorces et 101 bandes) dans deux populations d'ignames sauvages en sympatrie : 33 *D. abyssinica* (▼) et 40 *D. praehensilis* (●) au lieu-dit Tchaguessé.

Elle montre l'absence de chevauchement et l'existence de quelques plantes intermédiaires notées *D. abyssinica* et situées géographiquement en savane (a-5 et a-36). Les accessions a-10 et a-30, situées respectivement dans la savane arborée et en lisière de la forêt, avaient été notées à la collecte intermédiaire morphologiquement entre les deux espèces. Ces deux plantes avaient été supposées être des hybrides. Après analyse

AFLP, a-10 est située dans le groupe des ignames *D. abyssinica* et a-30 dans celui des ignames *D. praehensilis*. L'accession p-34, notée à la récolte *D. praehensilis*, est située dans le nuage des ignames sauvages *D. abyssinica* (fig. 2). Cette igname a été récoltée à environ 700 m de la forêt dans une plantation d'anacardiens en savane. L'accession, p-43, notée *D. praehensilis* à la collecte est dans le groupe des *D. abyssinica*.

3.2. Diversité génétique et relations entre cultivars du Bénin

Le nombre total d'allèles observés aux dix locus microsattellites chez 146 cultivars du Bénin est de 84, variant de quatre à 14. Trois cultivars, Alakissa, Ikéni et Ofégui ont 9 allèles spécifiques qui les isolent des autres cultivars. Les analyses suivantes ont été faites sans ces cultivars. Plusieurs accessions (16 %) ont présenté les mêmes génotypes et ont été considérées comme des duplicata.

L'hétérozygotie moyenne des 143 accessions est égale à 0,537. Les arbres réalisés avec la méthode du « neighbor-joining » sur la matrice des distances D_{LS} montrent une structuration des variétés locales du Bénin (fig. 3), suivant, d'une part, un critère phénologique et d'autre part, un critère géographique. Vingt-sept cultivars tardifs, essentiellement du Borgou et de l'Atacora forment un groupe distinct (fig. 3a). Parmi les seules ignames précoces et mixtes, les cultivars de l'Atacora forment deux groupes (fig. 3b).

Les corrélations obtenues par les test de Mantel sont hautement significatives entre distances génétiques et distances géographiques ($r = 0,10$, $P < 0,001$) et entre distances génétiques et les caractères précoce ou tardif ($r = 0,09$, $P < 0,001$). Le coefficient de différenciation, G_{st} , entre cultivars des quatre régions est de 0,034 et entre précoces et tardifs de 0,041.

Les distances minimum de Nei montrent que les cultivars de l'Atacora sont les plus éloignés génétiquement des cultivars du Zou et des Collines. La plus importante richesse allélique a été observée dans la région du Borgou ($6,4 \pm 0,9$). La richesse allélique des cultivars précoces est plus élevée que les tardifs (respectivement $7,1 \pm 1,1$ et $4,8 \pm 0,8$). Le locus *2E07* différencie le plus les cultivars des quatre départements ($G_{st} = 0,65$), tandis que *1C12* différencie le plus les cultivars précoces des cultivars tardifs ($G_{st} = 0,140$).

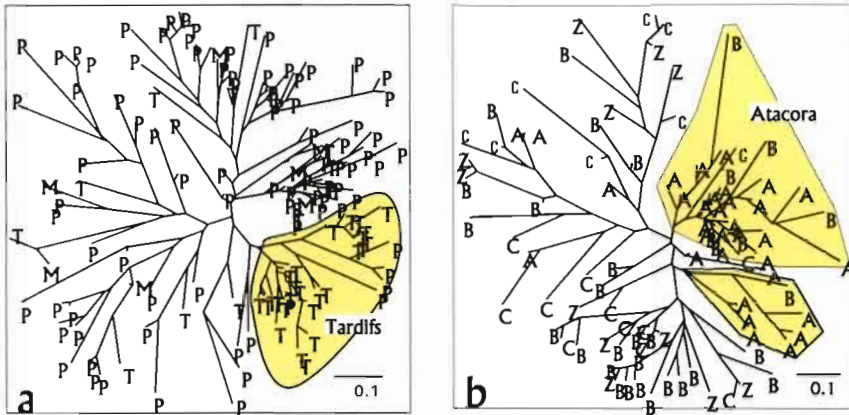


Figure 3 : Arbres non enracinés construits à partir de la matrice des distances D_{LS} entre cultivars du Bénin à l'aide de dix microsatellites nucléaires suivant la méthode du « neighbor-joining ». 3a : Relations entre les 134 cultivars précoces (P, 91 accessions), tardifs (T, 36) et mixtes (M, 7). 3b : Relations entre les 94 cultivars précoces des quatre régions : Atacora (A, 32 accessions), Borgou (B, 31), Collines (C, 20) et Zou (Z, 11).

3.3. Relations entre les cultivars et les deux espèces sauvages apparentées

3.3.1. À l'aide de marqueurs AFLP

Cinq cent dix bandes ont été révélées pour les quatre combinaisons d'amorce sur les 213 accessions étudiées. Vingt-six sont monomorphes (taux de polymorphisme de 95 %). Quarante et onze bandes ont été retenues. Tous ces marqueurs polymorphes sont présents dans au moins une accession de *D. abyssinica*, 86 % dans *D. praehensilis* et 92 % dans *D. rotundata*. Six bandes sont spécifiques des espèces sauvages (dont 4 < 10 %) mais il n'y a pas de marqueur spécifique de l'espèce cultivée. 80 % de la diversité totale est intra-spécifique. Trois cultivars sont classés avec *D. abyssinica* et un avec *D. praehensilis*. La projection des accessions dans le plan des axes 1 et 2 de l'analyse en composantes principales (16,1 % de la diversité totale) montre que les trois espèces sont bien individualisées surtout *D. abyssinica* (fig. 4). Cette analyse est confirmée par le dendrogramme obtenu par la méthode du « neighbor-joining » des distances D_{LS} [13].

3.3.2. À l'aide de marqueurs chloroplastiques

Les cinq paires d'amorces de tabac présentent un polymorphisme : trois allèles pour le locus NTCP8, six allèles pour NTCP9, deux allèles pour NTCP37, deux allèles pour NTCP39 et six allèles pour *ccmp2*. Les locus NTCP36 et 37 ont révélé la même variabilité : les accessions de *D. dumetorum* sont différentes des autres accessions (haplotype II). Les accessions de *D. rotundata*, les pré-domestiquées (à différentes étapes d'ennoblissement) et les accessions des deux espèces apparentées *D. abyssinica* et *D. praehensilis* sont regroupées dans l'haplotype I sauf trois accessions (deux *D. abyssinica* et une igname pré-domestiquée depuis deux ans). Éloignées des autres accessions, elles sont classées dans l'haplotype IV. Concernant les autres espèces de *Dioscorea*, les individus de chaque espèce sont regroupés entre eux formant chacun un haplotype, exception faite de *D. minutiflora*, *D. smilacifolia* et *D. burkilliana* qui ont le même haplotype (haplotype VIII).

3.4. Caractérisation des plantes pré-domestiquées à l'aide de marqueurs AFLP

Dans l'ACP (fig. 4), les 32 plantes pré-domestiquées se trouvent distribuées dans les trois espèces identifiées : 5 (16 %) dans *D. praehensilis*, 12 (37 %) dans *D. abyssinica* et 15 (47 %) dans *D. rotundata*. Quatorze sont en position intermédiaire entre *D. praehensilis* et *D. rotundata*, dont certaines dans la zone de chevauchement entre *D. praehensilis* et *D. rotundata*. L'absence de bande AFLP diagnostic des espèces sauvages ne permet pas de supposer une origine hybride à ces plantes intermédiaires.

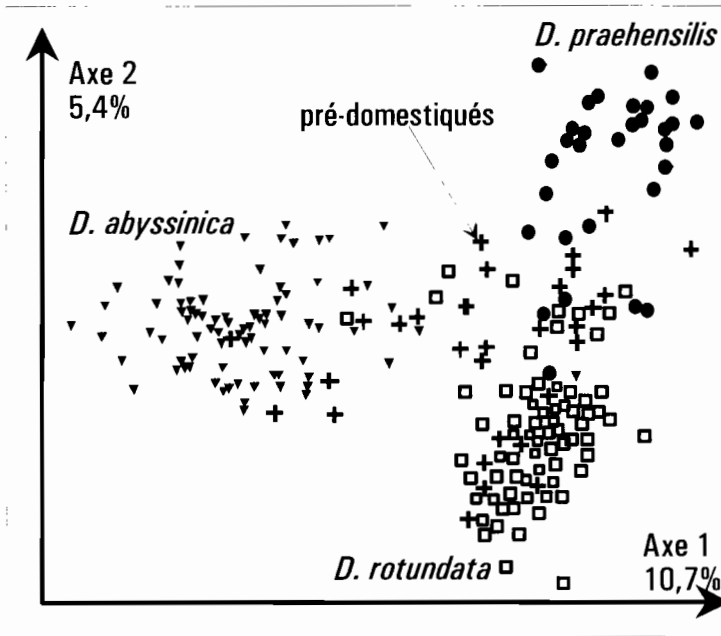


Figure 4 : Analyse en composantes principales des 91 marqueurs AFLP et de 213 accessions du Bénin. Projections dans le plan des axes 1 et 2 (16,1 % de la diversité totale) des 181 accessions de *D. abyssinica* (▼), *D. praehensilis* (●) et *D. rotundata* (□). Les 32 ignames pré-domestiquées (+) ont été projetées en éléments supplémentaires.

4. DISCUSSION

4.1. Distinction génétique entre les deux espèces sauvages

Les espèces les plus proches génétiquement des cultivars *D. rotundata* Poir. sont *D. abyssinica* Hoscht et *D. praehensilis* Benth. [12]. L'analyse de marqueurs AFLP d'une collection de ces deux espèces en Afrique de l'Ouest montre une structuration en deux groupes et une structuration géographique de la diversité au sein des deux espèces [16]. Les résultats obtenus dans une situation exceptionnelle de sympatrie à Tchaguessé, sur environ 5 ha, confirment cette analyse. Les deux espèces situées dans des conditions écologiques particulières (savane arborée et forêt sèche) sont aussi séparées génétiquement.

L'accession p-43 a le morphotype « praehensilis » mais le génotype d'« abyssinica ». Cela pourrait s'expliquer par un mauvais classement au

moment de la collecte, les tiges et tubercules de *D. praehensilis* étant plus ou moins épineux. D'où l'intérêt des marqueurs moléculaires pour clarifier la position taxonomique de plantes ayant une grande plasticité phénotypique. En position intermédiaire, les accessions a-5 et a-26 sont aussi intéressantes. Ce sont peut-être des hybrides interspécifiques car il y a dans cette région un chevauchement partiel des périodes de floraison. Pour confirmer le statut hybride de ces plantes, les marqueurs microsatellites nucléaires seront utilisés. Ils caractériseront mieux les accessions p-43, a-5 et a-26. Par ailleurs, il est important d'analyser les graines des accessions des deux espèces pour déterminer s'il y a des hybridations naturelles entre les deux espèces et une faible viabilité des hybrides.

Ces résultats, jamais obtenus par ailleurs, soulignent l'importance de considérer *D. abyssinica* et *D. praehensilis* comme deux espèces distinctes et non comme deux écotypes. La conservation *ex situ* des ignames sous forme de cultures *in vitro* pose des difficultés logistiques non négligeables au Bénin. Il faut donc envisager une conservation *in situ*. Pour cela, il est nécessaire de caractériser précisément la distribution géographique et la diversité génétique des différentes populations de ces deux espèces ancêtres des cultivars ainsi que leurs zones de sympatrie ou de parapatrie (lisières savanes - forêts).

4.2. Structuration de la diversité des ignames cultivées

Dans la culture traditionnelle de l'igname en Afrique, les paysans cultivent de quatre à douze variétés en moyenne pour utiliser les différentes niches écologiques et exploiter la forte diversité des sols. En plus du prestige que cela apporte auprès des jeunes ou des paysans qui commencent à cultiver l'igname, cela permet de sélectionner avec le temps les variétés les plus adaptées. Dix marqueurs microsatellites nucléaires polymorphes ont servi de marqueurs neutres pour l'identification variétale et la comparaison entre cultivars. Chaque cultivar a été identifié malgré le faible nombre de marqueurs. Une structure de la diversité globale a été observée suivant l'origine géographique des cultivars et suivant l'aptitude à tubériser deux fois (précoces) ou une fois (tardifs).

La double structuration est le résultat des pratiques et du savoir-faire paysans. Les ignames tardives et précoces sont par exemple deux types culturels adaptés aux besoins des paysans, respectivement pendant la saison sèche et la saison des pluies [5]. Dans l'Atacora, les paysans

cultivent les deux groupes de cultivars dans des champs séparés. Celui des ignames précoces est plus petit que celui des ignames tardives, les buttes sont plus grandes et le nombre de cultivars est plus élevé. Les résultats obtenus permettent d'envisager un meilleur échantillonnage des ressources génétiques conservées *ex situ* et leur gestion à la ferme.

La faible diversité des cultivars tardifs est un handicap à l'amélioration de la production actuelle d'igname. Ces cultivars sont cultivés dans un intérêt agronomique (rusticité et résistance à la sécheresse) et commercial (transformation des petits tubercules en cossettes). Il conviendra de confirmer si cette observation est valable pour l'ensemble des cultivars tardifs du Bénin et d'Afrique de l'Ouest. Les cultivars de cycle intermédiaire (mixtes à une ou deux récoltes) sont proches génétiquement des cultivars précoces mais morphologiquement intermédiaires entre précoces et tardifs. Ils sont donc particulièrement intéressants pour la sélection de cultivars tardifs ayant une plus forte diversité génétique.

Il reste à évaluer l'importance de la diversité génétique à l'intérieur d'un cultivar (un seul clone ou mélange de plusieurs clones) de façon à réfléchir sur la mise en œuvre d'une base de données d'identification moléculaire des cultivars. Cette base pourra 1) faciliter le choix des cultivars à conserver *ex situ* et *in situ*, 2) faciliter la comparaison entre les cultivars du Bénin et ceux du reste de l'Afrique de l'Ouest, notamment des pays limitrophes (Togo et Nigeria). Les comparaisons permettront d'identifier et d'isoler les cultivars spécifiques au Bénin (domestiqués et sélectionnés dans ce pays), 3) aider les sélectionneurs à orienter les croisements nécessaires à l'amélioration génétique des ignames par l'augmentation de la diversité génétique des cultivars tardifs ou l'utilisation de croisements à forte hétérosis.

Les résultats obtenus chez 23 plantes d'une espèce sauvage diploïde du Japon, *D. tokoro*, ont montré avec six microsattellites nucléaires un plus faible nombre d'allèles par locus (6,3) mais une hétérozygotie observée de $H_o = 0,54$, comparable à celle que nous avons observée dans notre échantillonnage [15].

4.3. Relations entre les deux espèces sauvages et les cultivars

Les marqueurs AFLP font apparaître trois groupes de plantes correspondant aux deux espèces sauvages et l'espèce cultivée. Il n'est pas possible de relier, contrairement aux marqueurs morphologiques [3], un

cultivar et son espèce ancestrale avant domestication. Cette situation est le plus souvent observée chez les plantes à multiplication sexuée anciennement domestiquées et subissant un processus continu de sélection. La grande distance génétique observée au Bénin entre les variétés locales issues des sélections paysannes récentes ou anciennes et les ignames sauvages en sympatrie montre que la domestication des ignames est ancienne et que les flux de gènes sont limités. Il est possible, mais peu probable, que les variétés soient d'origines extérieures au Bénin et domestiquées à partir d'ignames sauvages génétiquement différentes. Dans ce cas, la comparaison des trois espèces d'igname dans d'autres régions d'Afrique de l'Ouest serait intéressante à réaliser.

Tous les cultivars et les accessions des espèces sauvages apparentées ont un même haplotype chloroplastique. Ces résultats rejoignent ceux déjà obtenus [12]. Trois accessions de *D. abyssinica* ont un haplotype différent. Sachant que les cpSSRs sont peu variables, la distance génétique entre ces accessions collectées près de trois villages du Borgou (Gorobani, Fo Bouré et Wari) et le reste des accessions ayant l'haplotype I est telle qu'elles pourraient éventuellement être considérées comme n'appartenant pas à la même espèce, si on s'en tenait à ce seul critère. L'interprétation de ce polymorphisme est difficile. Ces accessions pourraient par exemple être d'anciennes formes sauvages de *D. abyssinica*. Cette hypothèse originale doit être vérifiée par le séquençage des différents allèles et l'étude des microsatellites nucléaires chez ces trois accessions.

4.4. Origine des plantes pré-domestiquées

En règle générale, les paysans sélectionnent des plantes spontanées ayant un phénotype peu éloigné des cultivars (plantes à grosses tiges avec de gros tubercules sans épines à chair blanche). Une grande partie des ignames pré-domestiquées (47 %) ont des génotypes cultivés. Elles peuvent être des échappées de culture issues de fragments de tubercules restés dans les anciens champs laissés en jachère. Elles peuvent être aussi et plus sûrement des plantes issues de graines dispersées par le vent, hybrides par fécondation libre de cultivars mâles et femelles.

L'analyse AFLP montre qu'il y a des plantes pré-domestiquées proches génétiquement des espèces *D. abyssinica* et *D. praehensilis* qui se reproduisent par la voie sexuée. Certains paysans sélectionnent bien des plantes sauvages pour l'ennoblissement. Des cultivars semblent être

obtenus par cette pratique : 5 cultivars sur 70 ont un génotype « sauvage ». La distance génétique importante observée entre les ignames sauvages et la majorité des cultivars indique que ces quelques cultivars sont issus d'une domestication récente. Ils n'auraient pas encore rejoint génétiquement, par rétrocroisements successifs, le groupe des cultivars. Leur petit nombre souligne la difficulté de sélectionner des ignames sauvages et le déclin de cette ancienne pratique paysanne.

Les ignames pré-domestiquées ayant des génotypes intermédiaires entre cultivars et ignames sauvages sont peut-être des hybrides entre ces deux groupes de plantes. Ce résultat doit être confirmé par l'analyse de descendances de cultivars en sympatrie avec des ignames sauvages.

L'analyse de la diversité génétique des plantes pré-domestiquées montre que la « domestication » ne peut pas être résumée à l'introduction de plantes sauvages dans le système de culture. L'étude menée à Tchaguessé pour mettre en évidence des hybrides naturels *D. abyssinica* x *D. praehensilis* a montré qu'il y a peu d'hybrides viables entre ces espèces. L'hypothèse de la domestication d'hybrides interspécifiques sauvages n'est pas vérifiée. Les paysans sélectionnent plutôt des hybrides naturels entre cultivars et des hybrides entre cultivars et ignames sauvages [13]. Des études doivent être réalisées sur les descendances de cultivars et d'ignames sauvages en situation de sympatrie pour montrer l'existence d'hybridations naturelles entre ces espèces.

Cette situation évoque celle du manioc, plante multipliée par bouturage pour laquelle a également été rapportée une utilisation par les agriculteurs de la reproduction sexuée entre cultivars dans le but d'augmenter la diversité variétale [7].

La richesse génétique des cultivars et des plantes en cours d'ennoblissement est une des raisons pour laquelle il est important de préserver et de développer les savoir-faire paysans à la ferme. Les approches de conservation à la ferme ont d'autant plus d'intérêt que l'igname est difficile à conserver *ex situ*.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée avec le soutien financier du Bureau des Ressources Génétiques (BRG France). Clément AGBANGLA a bénéficié de bourses de l'IRD et du Cirad. Nous remercions Baco NASSER pour

son aide dans le choix des cultivars dans le Borgou et Yves VIGOUROUX pour son aide dans les analyses génétiques.

RÉFÉRENCES

- [1] Bryan G.J., McNicoll J., Ramsay G., Meyer R.C., De Jong W.S., Polymorphic simple sequence repeat markers in chloroplast genomes of Solanaceous plants, *Theor. Appl. Genet.* 99 (1999) 859-867.
- [2] Chakraborty R., Jin L., An unified approach to study hypervariable polymorphisms: statistical considerations of determining relatedness and populations distances, in: Pena S.D.J., Chakraborty R., Epplen J.T., Frey A.J. (eds), *DNA fingerprinting: state of the science*, Birkhauser Verlag, Basel, (1993) pp. 153-175.
- [3] Dansi A.A., Mignouna H.D., Zoundjihékpon J., Sangaré A., Asiedu R., Quin F.M., Morphological diversity, cultivar groups and possible descent in the cultivated yams (*Dioscorea cayenensis/D-rotundata*) complex in Benin Republic, *Genetic Resources and Crop Evolution* 46 (1999) 371-388.
- [4] Dice L.R., Measures of the amount of ecologic association between species, *Ecology* 26 (1945) 297-302.
- [5] Dumont R., Étude morpho-botanique des ignames *Dioscorea rotundata* et *Dioscorea cayenensis* cultivées au Nord-Bénin, *L'Agronomie tropicale* 32 (1977) 225-241.
- [6] Dumont R., Vernier P., Domestication of yams (*Dioscorea cayenensis-rotundata*) within the Bariba ethnic group in Benin, *Outlook on Agriculture* 29 (2000) 137-142.
- [7] Elias M., Panaud O., Robert T., Assessment of genetic variability in a traditional cassava (*Manihot esculenta* Crantz) farming system, using AFLP markers, *Heredity* 85 (2000) 219-230.
- [8] Hamon P., Dumont R., Zoundjihékpon J., Tio-Touré B., Hamon S., Les ignames sauvages d'Afrique de l'Ouest, *Caractères morphologiques*, Orstom, Paris, 1995, 84 p.
- [9] Ishii T., McCouch S.R., Microsatellites and microsynteny in the chloroplast genomes of *Oryza* and eight other Gramineae species, *Theor. Appl. Genet.* 100 (2000) 1257-1266.
- [10] Liu J., PowerMarker - a powerful software for marker data analysis. North Carolina State University Bioinformatics Research Center, Raleigh, NC (www.powermarker.net) (2002).
- [11] Mignouna H.D., Dansi A., Yam (*Dioscorea* sp.) domestication by the Nago and Fon ethnic groups in Benin, *Genet. Res. Crop Evol.* 50 (2003) 519-528.
- [12] Ramser J., Weising K., Lopez-Peralta C., Terhalle W., Terauchi R., Kahl G., Molecular marker-based taxonomy and phylogeny of Guinea yam (*Dioscorea rotundata* - *D. cayenensis*), *Genome* 40 (1997) 903-915.

- [13] Scarcelli N., Tostain S., Mariac C., Agbangla C., Daïnou O., Berthaud J., Pham J.L., Genetic nature of yams (*Dioscorea* sp.) domesticated by farmers in Benin (West Africa), Genetic Resources and Crop Evolution (sous presse).
- [14] Scarcelli N., Daïnou O., Agbangla C., Tostain S., Pham J.-L., Segregation patterns of isozyme loci and microsatellite markers show the diploidy of African yam *Dioscorea rotundata* ($2n = 40$), Theor. Appl. Genet. 111 (2005) 226-232.
- [15] Terauchi R., Konuma A., Microsatellite polymorphism in *Dioscorea tokoro*, a wild yam species, Genome 37 (1994) 794-801.
- [16] Tostain S., Agbangla C., Daïnou O., Diversité AFLP des ignames sauvages *D. abyssinica* et *D. praehensilis*, Annales des sciences agronomiques du Bénin 3 (2002) 1-20.
- [17] Tostain S., Okry F.K., Baco M.N., Mongbo R.L., Agbangla C., Daïnou O., La « domestication » des ignames *Dioscorea abyssinica* dans les sous-préfectures de Sinendé et de Banté au Bénin (Afrique de l'Ouest), Annales des sciences agronomiques du Bénin, 4 (2003a) 33-53.
- [18] Tostain S., Agbangla C., Baco M.N., Okry F.K., Daïnou O., Étude des relations entre ignames sauvages et ignames cultivées (*Dioscorea* sp.) dans deux sous-préfectures du Bénin à l'aide de marqueurs AFLP, Annales des sciences agronomiques du Bénin 4(1) (2003b) 1-22.
- [19] Vernier Ph., Orkwor G.C., Dossou A.R., Studies on yam domestication and farmers' practices in Benin and Nigeria, Outlook on Agriculture 32 (2003) 35-41.
- [20] Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M., AFLP: a new technique for DNA fingerprinting, Nucleic Acid Res. 21 (1995) 4407-4414.
- [21] Weising K., Gardner R.C., A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms, Genome 42 (1999) 9-19.

Tostain Serge, Chair H., Scarcelli Nora, Noyer J.L., Agbangla C.,
Marchand J.L., Pham Jean-Louis

Diversité, origine et dynamique évolutive des ignames
cultivées *Dioscorea rotundata* Poir. au Bénin

In : Un dialogue pour la diversité génétique. Paris : BRG, 2005,
p. 465-482

(Les Actes du BRG ; 5). ISBN 2-908-447-33-9 Colloque
National du BRG : Un Dialogue pour la Diversité Génétique, 5.